

International Conference 16th Ružička days
"TODAY SCIENCE – TOMORROW INDUSTRY"
September 21-23, 2016 / Vukovar, Croatia

Kemijska analiza i sinteza / Chemical Analysis and Synthesis

Pregledni rad

Primjena antiretrovirusne terapije u liječenju infekcija uzrokovanih virusom HIV-om

Jelena Klenkar*

Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek,
Franje Kuhača 20, 31 000 Osijek, Hrvatska
*Dopisni autor: jelena.klenkar@gmail.com

Sažetak

Poznato je već nekoliko desetljeća da je uzročnik SIDE tj. sindroma stečene imunoneдостatnosti (engl. AIDS-acquired immunodeficiency syndrom) virus humane imunoneдостatnosti (engl. HIV-Human immunodeficiency virus). Od tada pa do danas razvijeno je više lijekova za HIV infekcije nego za sve ostale virusne infekcije zajedno. Anti -HIV lijekovi ubrajaju se u različite kategorije ovisno o fazi životnog ciklusa HIV-a koju inhibiraju; nukleozidni inhibitori reverzne transkriptaze (NRTI: zidovudin, didanozin, zalcitabin, stavudin, lamivudin, abacavir i emtricitabin); nukleotidni inhibitori reverzne transkriptaze (NtRTI: tenofovir), nenukleozidni inhibitori reverzne transkriptaze (NNRTI: nevirapin, delavirdin, efavirenz i etravirin), inhibitori proteaze (PI: sakvinavir, ritonavir, indinavir, nelfinavir, amprenavir, lopinavir, atazanavir, fosamprenavir, tiprinavir i darunavir), inhibitori ulaska u stanicu domaćina (fuzijski inhibitori (FI: enfuvirtid) i koreceptorski inhibitori (CRI: maraviroc)) i inhibitori integraze (INI: raltegravir). Kako bi se postigli što bolji rezultati, poboljšala tolerantnost na lijek i smanjila pojava rezistentnosti na lijek, danas se koristi visokoučinkovita antiretrovirusna terapija tzv. HAART terapija, koja koristi kombinaciju 2, 3 ili više lijekova koji inhibiraju različite faze u replikaciji virusa HIV-a.

Ključne riječi: virus HIV-a, anti-HIV lijekovi, HAART terapija

Uvod

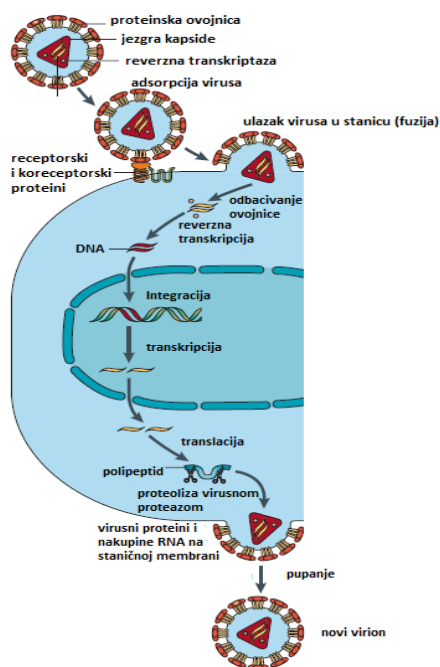
Virus HIV-a (engl. HIV - Human immunodeficiency virus) prvi put su izolirali 1983. godine istraživači s Pasteurovog instituta u Parizu iz biopata limfnog čvora bolesnika i nazvali ga virus udružen s limfadenopatijom (LAV, fr. *Lymphadénopathie associée virus*). 1984. god. identičan je virus dokazan i u SAD-u te nazvan ljudskim virusom leukemije T-limfocita (HTLV, engl. *Human T-cell leukemia virus*). Od 1986. koristi se isključivo naziv virus ljudske imunodeficijencije (HIV, engl. *Human immunodeficiency virus*) (Planinić, 2014).

AIDS i infekcije uzrokovane HIV-om predstavljaju globalni zdravstveni problem; kompleksnu znanstvenu "puzzlu" za otkrivanje novih lijekova i cjepiva. Prvi puta zabilježena 1981. na malom broju pacijenata, AIDS je danas poprimila razmjere epidemije sa više od 38 milijuna inficiranih ljudi diljem svijeta, uključujući oko 1 milijun u SAD-u, oko 580 000 u zapadnoj Europi i više od 25 milijuna ljudi u subsaharskom području Afrike (Pommier i sur., 2005).

Životni ciklus virusa humane imunodeficijencije (HIV)

Virus HIV-a se najčešće prenosi parenteralnim ili spolnim putem. Prvi korak uključuje vezanje (adsorpcija) HIV-a za ciljane stanice u limfnim čvorovima, gdje se replicira i uzrokuje kronične infekcije (Palmisano i Vella, 2011). Infekcija HIV-om započinje vezanjem virusnog glikoproteina gp120 za molekulu CD4 na membrani ciljane stanice. Molekula CD4 je eksprimirana na membrani T-limfocita, monocita, dendritičkih stanica i stanica mikroglije i primarni je stanični receptor za HIV (Planinić, 2014). Vezanje na CD4 proteine dovodi do konformacijskih promjena u glikoproteinu gp 120, neki od tih promjena formiraju aktivno mjesto za specifične kemokin receptore. Ti kemokin receptori (najčešći su CCR5 i CXCR4), su sekundarni receptori potrebni za fuziju virusa HIV-a u stanicu. V3-petlja u glikoproteinu gp 120 određuje specifičnost kemokin receptora (Kwong i sur., 1998). Glikoprotein gp 120 ima 11 definiranih petlji, pri čemu je pet varijabilnih (V1-V5) (De Clercq, 2002). Uporaba kemokinskih koreceptora CCR5 i/ili CXCR4 za ulazak HIV-a u stanicu naziva se koreceptorskim tropizmom virusa (Planinić, 2014). Sojevi HIV-a koji koriste koreceptor CCR5 nazivaju se R5-virusima ili M-trofični virusi, a sojevi virusa koji koriste CXCR4 nazivaju se X4- virusi ili T-trofični virusi. CXCR4 i CCR5 prirodni su receptori za CXC kemokine (SDF1 -engl. stromal cell-derived factor 1) i C-C kemokine (RANTES -engl. regulated upon activation, normal T-cell expressed and secreted i MIP1 -engl. macrophage inflammatory protein 1) (De Clercq, 2002). Općenito, R5-virusi inficiraju makrofage i T- stanice, a karakterizira ih manje agresivan rast in vitro. X4-virusi inficiraju samo T- stanice, a njihov rast in vitro karakterizira visoki virusni titar i prisutnost tzv. sincicijskih stanica, koje nastaju spajanjem

većeg broja inficiranih stanica, te ih možemo vidjeti svjetlosnim mikroskopom (Shehu-Xhilaga i Oelrichs, 2009). Nakon što se gp 120 HIV-a veže za molekulu CD4 i koreceptor, konformacijska promjena u gp 41 uzrokuje umetanje N-terminalnog hidrofobnog dijela peptida u membranu ciljane stanice. Ovo umetanje uzrokuje fuziju membrane i ulazak virusnih čestica u citoplazmu. Proces fuzije kritički ovisi o interakciji između N- i C-terminalnog dijela gp 41 u izvanstaničnom prostoru (Shehu-Xhilaga i Oelrichs, 2009). Nakon fuzije, prvo dolazi do reverzne transkripcije RNA u u jednolančanu DNA, zatim u dvolančanu DNA. Ova dva koraka katalizirana su pomoću virusne reverzne transkriptaze. Dvolančana DNA kako bi mogla biti aktivno transportirana u jezgru, formira kompleks sa proteinima virusa (uključujući matriks, integrazu i Vpr) i proteinima stanice domaćina (Shehu-Xhilaga i Oelrichs, 2009).



Slika 1. Životni ciklus virusa HIV-a
Fig. 1. The HIV life cycle (De Clercq, 2002)

Kemijska analiza i sinteza / Chemical Analysis and Synthesis

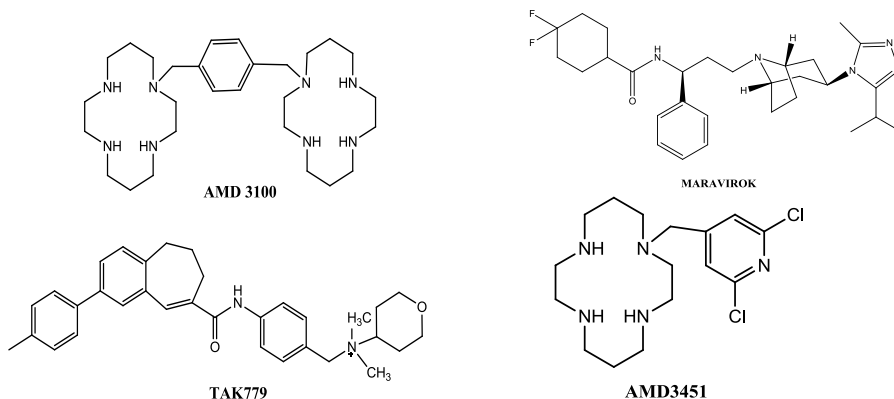
Zatim je integrirana pomoću virusne integraze u genom stanice domaćina ili formira stabilne DNA krugove. Integrirani oblik HIV poznat je kao provirus. Provirusna DNA se replicira zajedno sa normalnim dijelom staničnog genoma i može ostati u integriranom obliku duži period (Shehu-Xhilaga i Oelrichs, 2009).

Antiretrovirusna terapija

Primjena antiretrovirusne terapije započela je 1984. godine otkrićem suramina, lijeka koji se koristio u terapiji tripanosomijaze i onkocerkoze. Suramin, iako se pokazao djelotvoran u inhibiciji reverzne transkriptaze velikog broja retrovirusa, zbog svoje pretoksičnosti više se ne koristi u antiretrovirusnoj terapiji. Razvijeni su novi manje toksični i djelotvorniji inhibitori reverzne transkriptaze, analozi 2',3'-dideoksinukleozida (ddN) (De Clercq, 2005). Prvi ddN analozi, češći naziv nukleozidni inhibitori reverzne transkriptaze (NRTI) bili su 3'-azido-3'-deoksitimin (AZT), 2'3'-dideoksiinozin (ddI), 2'3'-didehidrotimidine(d4T), kasnije spojen u (-) 3'-tia- 2', 3'-dideoksicitidine (3TC), abacavir (ABC) i emtricitabin ((-)FTC). Od ddN analoga, AZT (zidovudin) je bio prvi lijek odobren za kliničku upotrebu u terapiju AIDS-a, te unatoč toksičnosti (toksično djeluje na koštanu srž) i dalje se danas koristi u kombinaciji sa ostalim HIV lijekovima (De Clercq, 2005). U samim počecima traženja anti HIV lijeka, bilo je teško predvidjeti da će do 2008. godine 25 godina nakon što je virus HIV-a otkriven biti dostupno 25 anti HIV lijekova odobrenih za kliničku upotrebu. Ti lijekovi ubrajaju se u različite kategorije ovisno o fazi životnog ciklusa HIV-a koju inhibiraju (De Clercq, 2009).

Inhibitori fuzije

Virusi sa ovojnicom, u pravilu ulaze u stanicu procesom fuzije virusne ovojnice i membrane stanične plazme. Ovaj proces sličan je za sve viruse sa ovojnicom, kao što su retrovirusi, paramiksovirusi i herpesvirusi. Međutim, kod HIV-a prije fuzije dolazi do interakcije glikoproteina gp 120 sa koreceptorima na stanici domaćina- kemokin pokretački receptor 4 (CXCR4) ili kemokin pokretački receptor 5 (CCR5) (De Clercq, 2002).

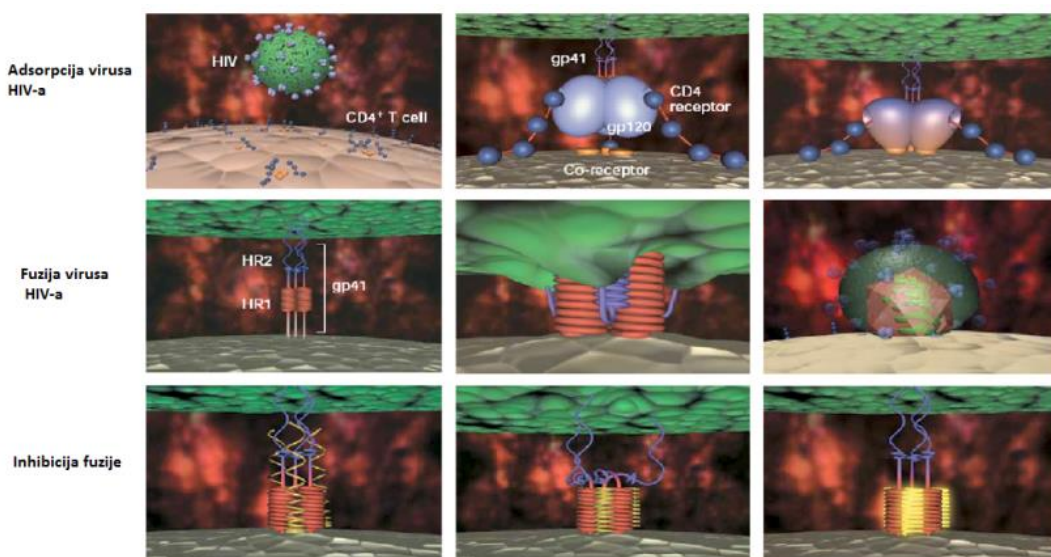


Slika 2. Koreceptorski inhibitori
Fig. 2. Coreceptor inhibitors (De Clercq, 2002)

Antagonisti CXCR4 i CCR5 blokiraju odgovarajući koreceptor, te sprječavaju ulazak HIV-a u stanicu (De Clercq, 2002). Najistaknutiji među antagonistima CXCR4 je biciklam AMD 3100, dok TAK779 ima najbolje djelovanje kao antagonist CCR5 (De Clercq, 2002). AMD-3100 može spriječiti samo replikaciju X4- virusa ili sojeve dvojnog tropizma X4/R5 virusa HIV-a (De Clercq, 2005). U 2007. godini je odobren je za kliničku upotrebu jedini koreceptorski inhibitor maravirok, koji je antagonist CCR5 (De Clercq, 2009). Kako bi se osigurala maksimalna pokrivenost oba soja (X4 i R5), trebaju biti razvijeni antagonisti koji djeluju protiv oba soja virusa HIV-a ili kombinirati antagoniste CCR5 i antagoniste CXCR4 (De Clercq, 2002).

AMD-3451, analog N-piridinilmetila pokazao je antivirusnu aktivnost na R5, R5/X4 i X4 sojevima HIV-a. Ovaj antagonist inhibira signalizaciju unutarstaničnog Ca^{2+} koja je inducirana ligandom CXCL12 kemokin receptora CXCR4, te ligandima CCL5, CCL3 i CCL4 kemokin receptora CCR5, te se može smatrati dvojnim antagonistom (De Clercq, 2005).

Fuzijski inhibitori vežu se za gp 41, te sprječavaju konformacijsku promjenu gp 41 pri čemu blokiraju infekciju (Matthews i sur., 2004). Nakon adsorpcije virusa na CD4 receptore, konformacijska promjena u gp 120 omogućava vezanje na koreceptore CCR5 i CXCR4, dok konformacijska promjena u gp41 omogućava umetanje hidrofobnih dijelova N-terminalnog kraja u membranu stanice domaćina. HR2 područje gp 41 se zatim savija i povezuje sa HR1 područjem gp41. Ovaj proces (engl. gp 41 zipping) dovodi do fuzije virusne i stanične membrane (Matthews i sur., 2004).



Slika 3. Mehanizam djelovanja fuzijskog inhibitora enfuvirtida

Fig. 3. Mechanism of action of fusion inhibitor enfuvirtide (Matthews i sur., 2004)

Kemijska analiza i sinteza / Chemical Analysis and Synthesis

Prvi sintetički peptid DP-107 koji se koristio kao fuzijski inhibitor sadržavao je 38 amino kiselina koje odgovaraju aminokiselinama N terminalnog područja gp 41. Substitucijom amino kiselina i kemijskom modifikacijom u DP-107 došlo je do destabilizacije sekundarne strukture i značajnog smanjenja njegove antivirusne aktivnosti (Matthews i sur., 2004). Peptid koji sadrži 36 amino kiselina DP-178, kasnije nazvan enfuvirtid (Fuzeon, prijašnji naziv T-20) oponaša C terminalni kraj gp 41 i 100 puta je djelotvorniji od DP-107 (Matthews i sur., 2004). Enfuvirtid se za razliku od ostalih antiretrovirusnih lijekova, ne primjenjuje u oralnom obliku, već u obliku injekcija supkutano (pod kožu) (Mohanty i Dixit, 2008). Enfuvirtide je trenutno jedini dostupan fuzijski inhibitor za liječenje infekcija HIV-om (De Clercq, 2009).

Inhibitori reverzne transkriptaze

Reverzna transkriptaza (RT) je esencijalan enzim u replikativnom ciklusu retrovirusa, kao što je HIV. Upravo zbog toga što je esencijalna samo za replikaciju HIV-a, tj. nije potrebna za metabolizam stanice domaćina, zanimljiva je meta djelovanja antiretrovirusnih lijekova. Reverzna transkriptaza HIV-a je meta djelovanja tri vrste inhibitora: nukleozidni inhibitori reverzne transkriptaze (NRTI), nukleotidni inhibitori reverzne transkriptaze (NtRTI) i nenukleozidni inhibitori reverzne transkriptaze (NNRTI) (De Clercq, 2009).

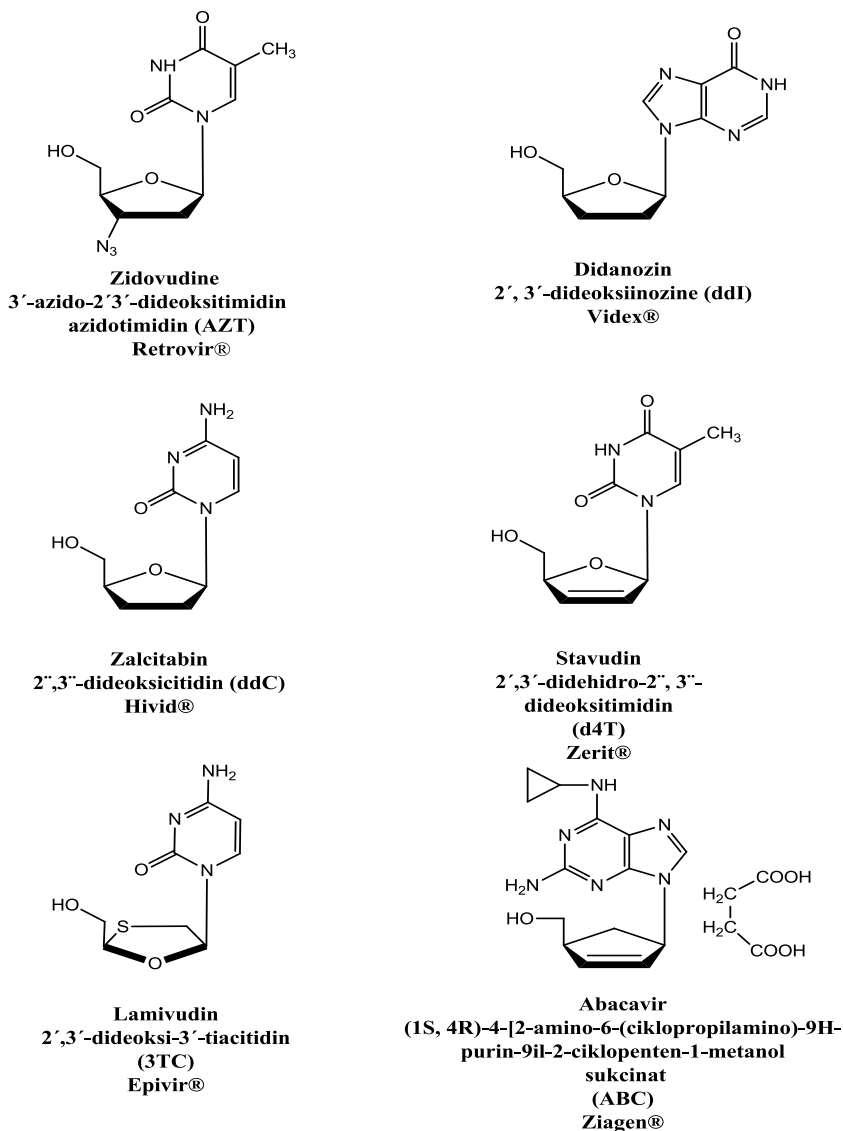
Nukleozidni inhibitori reverzne transkriptaze (NRTI)

NRTI pokazuju svoje anti-HIV djelovanje, tako što inhibiraju aktivnost HIV reverzne transkriptaze. Kako bi djelovali, moraju biti fosforilirani pomoću kinaza stanice domaćina do trifosfata. Nakon fosforilacije, pomoću DNA polimeraze ugrađuju se u rastući DNA lanac. Zbog nedostatka OH skupine u položaju 3', onemogućavaju daljnju ugradnju nukleotida, te zaustavljaju rast DNA lanca (Mehellou, De Clercq, 2009). Trenutno je odobreno (2008. god.) sedam NRTI za liječenje HIV infekcija: zidovudin (AZT), didanozin (ddI), zalcitabin (ddC), stavudin (d4T), lamivudin (3TC), abacavir (ABC) i emtricitabin ((-)FTC) (De Clercq, 2009). Svi ovi dideksinukleozidni analozi (ddN) djeluju slično kao AZT. Moraju biti fosforilirani unutar stanice domaćina pomoću tri stanične kinaze; nukleozidne kinaze (NDP), nukleozidne 5'-monofosfat kinaze i nukleozid 5'-difosfat kinaze kako bi nastao 5'-trifosfat derivat, koji tijekom reverzne transkripcije (RNA→DNA) zaustavlja rast DNA lanca (De Clercq, 2002).

Nukleotidni inhibitori reverzne transkriptaze (NtRTI)

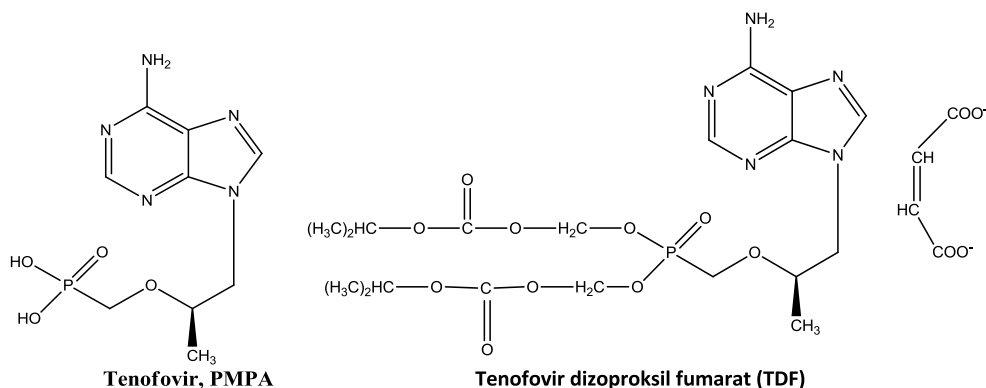
Nukleotidni inhibitori reverzne transkriptaze (NtRTI) razlikuju se od nukleozidnih inhibitora reverzne transkriptaze (NRTI) u tome što NtRTI trebaju samo dva stupnja fosforilacije kako bi postali aktivni (De Clercq E., 2009). Što je najvažnije, sadrže fosfonatnu grupu koju esteraza ne može odcjepiti, te jednom kada se ugrade u 3' terminalni kraj lanca DNA, teško se otcjepe za razliku od regularnih nukleotida (npr. ddAMP, ddCMP) (De Clercq, 2009). Prototip NtRTI tenofovir ((R)9-(2-fosfonometoksi propil) adenin) prvi puta je opisan 1993. godine (De Clercq, 2009). Tenofovir (PMPA) je analog nukleotida koji pripada acikličkim nukleozidnim fosfonatima. Tenofovir se unutar stanice metabolizira u aktivni metabolit, tenofovir difosfat, koji je kompetitivni inhibitor HIV-1 reverzne transkriptaze, te zaustavlja rast DNA lanca (Barditch-Cruovo i sur., 2001). Međutim, tenofovir je pokazao lošu bioraspoloživost, stoga je razvijen njegov prolijevak tenofovir dizoproskil fumarat (Barditch-Cruovo i sur., 2001). Tenofovir dizoproskil fumarat (TDF) je

najčešće prepisani lijek za liječenje HIV infekcija. Od 2008. godine je odobren i za liječenje kroničnih infekcija uzrokovanih hepatitisom B (De Clercq, 2009).



Slika 4. Strukture nukleozidnih inhibitora reverzne transkriptaze (NRTI)
Fig. 4. Structure of nucleoside reverse transcriptase inhibitors (De Clercq, 2009)

Kemijska analiza i sinteza / Chemical Analysis and Synthesis



Slika 5. Struktura tenofovira i njegovog prolijeka tenofovir dizoproksil fumarata (TDF)
Fig. 5. Structure of tenofovir and his prodrug tenofovir disoproxil fumarate (De Clercq, 2009)

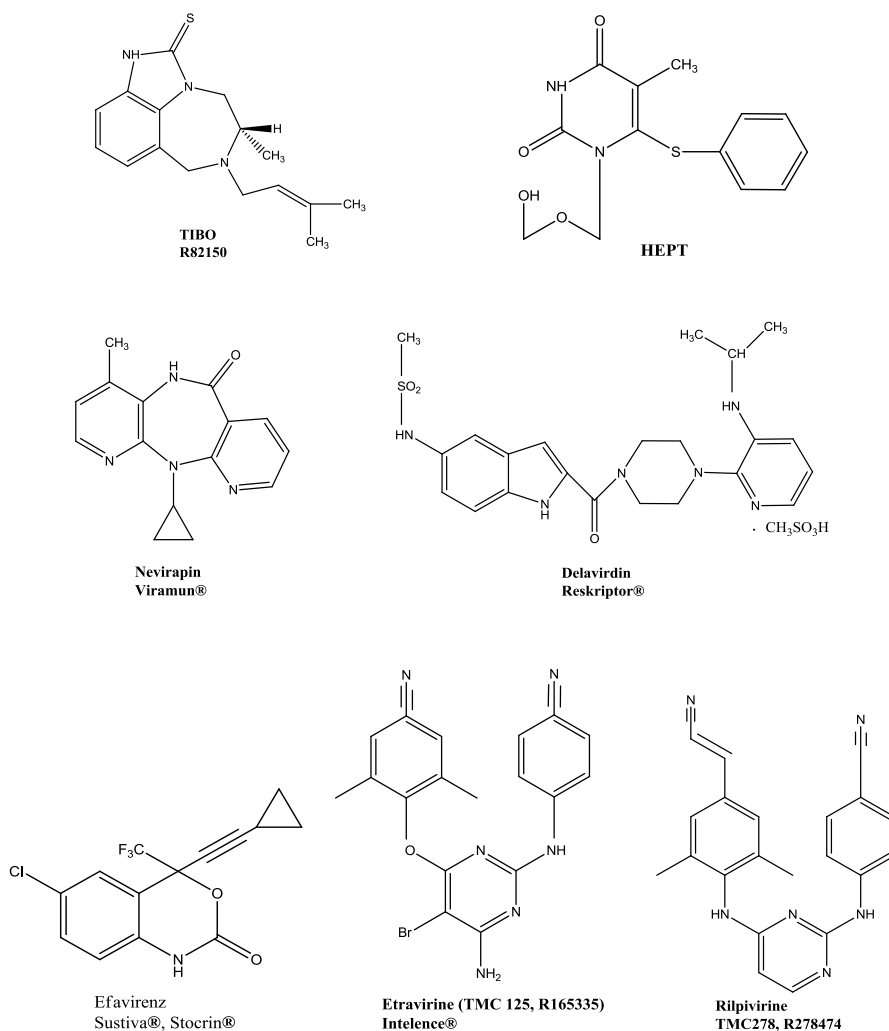
Nenukleozidni inhibitori reverzne transkriptaze (NNRTI)

NNRTI su nekompetitivni inhibitori HIV- reverzne transkriptaze, tj. vežu se na alosteričko mjesto u blizini (~15 Å) aktivnog mjesta reverzne transkriptaze (Mehellou, De Clercq, 2009). Alosteričko mjesto ne postoji u reverznoj transkriptazi koja ne sadrži ligand, te postoji jedino u reverznoj transkriptazi HIV-1. Stoga samo reverzna transkriptaza HIV-1 posjeduje vezna mjesta za NNRTI. Vezanje NNRTI za alosteričko mjesto uključuje interakcije sa aromatskim amino kiselinama Y181, Y188, W229 i Y318, elektrostatske interakcije sa K101, K103 i E138, van der Waalsove interakcije sa L100, V106, Y181, G190, W229, L234 i Y318 i međusobno povezivanje vodikovim vezama sa peptidnom vezom glavnim lanca (De Clercq, 2002).

Primjena NNRTI započela je otkrićem 1-[(2-hidroksietoksi)metil]-6-(fenilsulfanil) timin (HEPT) i 4,5,6,7-tetrahidroimidazo [4,5,1-jk] [1,4]benzodiazepin-2(1H)-on i -tione (TIBO), kao specifičnih inhibitora HIV-1(ne djeluju protiv HIV-2 i ostalih retrovirusa) (De Clercq, 2004). HEPT je prvo bio ispitan kao potencijalno djelotvoran protiv herpes simplex virusa (HSV). Ova tvrdnja je bila inspirirana činjenicom da HEPT isto kao i aciklovir koji je djelotvoran protiv HSV sadrži (2-hidroksietoksi)metil lanac. Tijekom toga vremena već se znalo da 1-[(2-hidroksietoksi)metil] pirimidin derivati, te također i derivati (E)-5-(2-bromovinil) nisu pokazali djelovanje protiv HSV. Kao što nije ni HEPT (TS-II-25). HEPT (TS-II-25) je prvi nenukleozidni inhibitor reverzne transkriptaze (NNRTI) djelotvoran protiv HIV tipa 1 (De Clercq, 2013).

Dva mjeseca nakon HEPT derivata, opisani su i TIBO derivati kao specifični inhibitori HIV-1 reverzne transkriptaze. Od originalnih TIBO derivata, jedino je TIBO R86183 odobren kao klinički lijek pod nazivom tivirapine (De Clercq, 2013). Rilpivirin (TMC278) je najnoviji član nenukleozidnih inhibitora reverzne transkriptaze koji inhibira HIV-1 reverznu transkriptazu. Kao i ostali TIBO derivati, rilpivirine veže se na aktivno mjesto kao i ostali nenukleozidni inhibitori reverzne transkriptaze NNRTI, dok se cijanovinilna grupa rilpivirina veže sa aminokiselinom W229 reverzne transkriptaze. Dvodimenzionalni infracrveni spektar kompleksa rilpivirina sa HIV-1 reverznom transkriptazom pokazao je dovoljnu fleksibilnost kompleksa, što objašnjava potencijalno djelovanje rilpivirina protiv rezistentnih mutanata (De Clercq, 2013).

Nevirapine je prvi NNRTI kojeg je odobrila FDA 1996.god, zatim delavirdine 1997. god i efavirenz 1998. god. Novija generacija NNRTI, etravirin odobrena je 2007. god. za liječenje pacijenata sa rezistencijom na NNRTI (Schrijvers i sur., 2011).

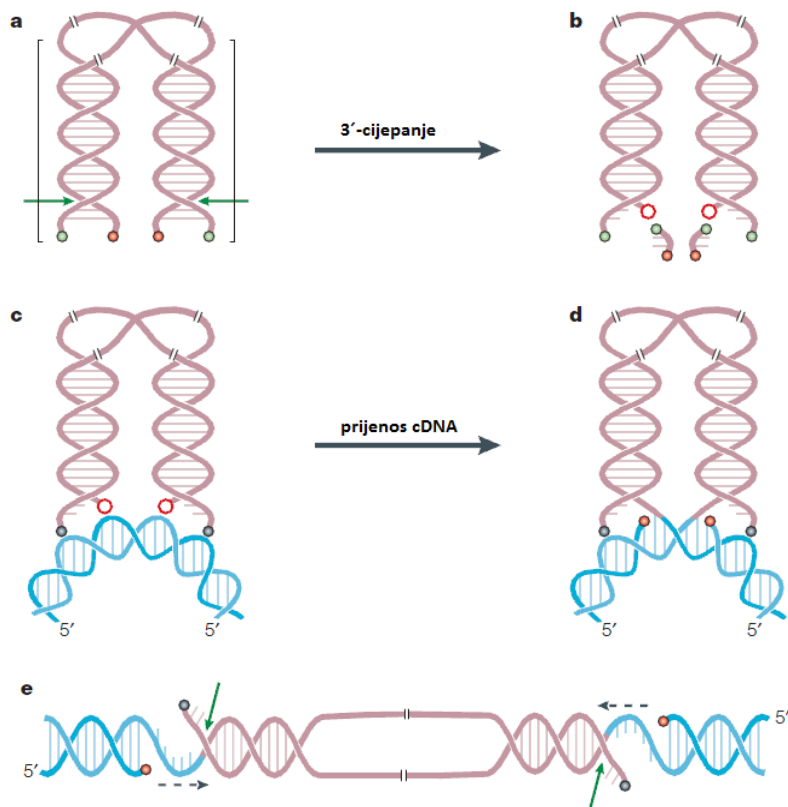


Slika 6. Strukture nenukleozidnih inhibitora reverzne transkriptaze (NNRTI)
Fig. 6. Structure of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (De Clercq, 2009)

Kemijska analiza i sinteza / Chemical Analysis and Synthesis

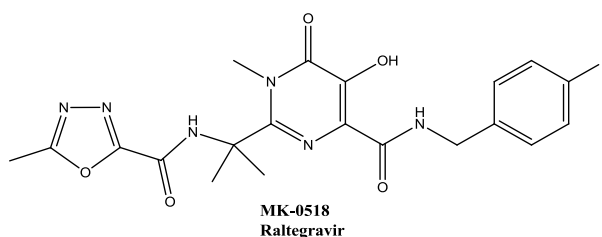
Inhibitori integraze

Oko 40 – 100 molekula integraze se nalazi upakirano u svakom pojedinom virusu HIV-a. Primarna uloga integraze je kataliza ugradnje (integracija) virusne cDNA u genom inficirane stanice, iako integraze mogu djelovati i kao kofaktori u reverznoj transkripciji. Proces integracije je esencijalan za virusnu replikaciju, jer za transkripciju virusnog genoma i sintezu proteina virusa potrebno je da virusna cDNA bude integrirana u kromosom (Pommier i sur., 2005). Nakon reverzne transkripcije, integraza otcjepljuje 3'-kraj na virusnoj cDNA u citoplazmi. Ovaj korak u procesu integracije se naziva 3'-cijepanje (engl. 3'-processing) i uključuje endonukleolitičko cijepanje nukleotida sa 3'-kraja lanca virusne cDNA. Nakon 3'-cijepanje, integraza ostaje povezana sa virusnom cDNA u multimerni kompleks u kojem su oba kraja virusne cDNA povezana. Ovaj kompleks tzv. preintegracijski kompleks (PIC) sadrži virusne i stanične proteine. Virusni proteini (reverzne transkriptaze (RT), matriksa, nukleokapside) omogućavaju transport PIC-a kroz membranu stanične jezgre (Pommier i sur., 2005).



Slika 7. Shematski prikaz procesa integracije cDNA u genom stanice domaćina
Fig. 7. A schematic representation of the process of integration cDNA into the genome of the host cell (Pommier i sur., 2005)

Za razliku od ostalih lenta virusa, kao što su onkoretrovirusi Moloney-ev mišji virus i Rous sarkoma virus, preintegracijski kompleks (PIC) HIV-1 može proći kroz pore membrane jezgre, bez njezina prethodnog cijepanja (Pommier i sur., 2005). Nakon šta dospije u jezgru, integraza katalizira umetanje krajeva virusne cDNA u kromosom domaćina. Povezuje se 3'-OH kraj virusne DNA sa 5'-DNA fosfatom kromosoma domaćina. Integraza može također i katalizirati reverzibilnu reakciju tj. dezintegraciju. Potpuno integrirani virus HIV-a naziva se provirus (Pommier i sur., 2005). Iako je se mnogo godina radilo na traženju lijeka koji inhibira djelovanje integraze, tek je u 2007. godini raltegravir, kao prvi integrazni inhibitor odobren za kliničku upotrebu (De Clercq, 2009). Raltegravir, poznat i kao MK-0518 inhibira prijenos cDNA u procesu integracije HIV-1. Djelotvoran je protiv rezistentnog HIV-1 i oba soja HIV-1, CCR5 i CXCR4 trofičnih virusa *in vitro* (Grinsztejn, 2007).



Slika 8. Struktura Raltegravira
Fig. 8. Structure of Raltegravir (De Clercq, 2009)

Inhibitori proteaze (PI)

Protease virusa su ključne u životnom ciklusu mnogih virusa, uključujući retrovire kao što je HIV, herpes virusi, picorna virusi (npr. rinovirus) i flavivirusi kao što je HCV (humani citomegalovirus). Stoga su virusne proteaze pogodno mete antivirusnih agenata (De Clercq, 2002). Proteaze cijepaju novo eksprimirane prekursore poliproteina u manje zrele virusne proteine, koji se nazivaju funkcionalni (imaju enzimsko djelovanje) ili strukturni (ako su dio strukture viriona) (De Clercq, 2002). Npr., u procesu replikacije HIV-a, HIV proteaze cijepaju glikozoaminoglikan (gag) i prekursorske proteine gag polimeraze (gag-pol) u strukturne (p17, p24, p9 i p7) i funkcionalne proteine (protease, reverzne transkriptaze/RNaze H i integraze) (De Clercq, 2002).

Inhibitori HIV proteaze su iskrojani prema peptidnoj vezi u prekursorskim proteinima gag i gag-pol koje cijepaju proteaze. Najčešće se modeliraju prema aktivnom mjestu enzima, koje se nalazi na razmeđu dviju homodimernih podjedinica i u koje strše ogranci asparaginske kiseline (Mintas, Raić-Malić, 2009). Trenutno je prisutno deset inhibitora proteaze koji su odobreni za kliničku upotrebu u liječenju HIV infekcija. Osim tipranavira, svi PI su bazirani na peptidomimetičkom principu, sadrže središnji hidroksietilenski most koji imitira peptidnu vezu koju HIV proteaza ne može pocijepati.

Deset PI trenutno dostupnih za liječenje HIV infekcija su: sakvinavir, ritonavir, indinavir, nelfinavir, amprenavir, lopinavir, atazanavir, fosamprenavir, tipranavir i darunavir (De Clercq, 2009).

Inhibitori HIV proteaze korisni su kemoterapeutici koji se koriste u kombinaciji sa nukleozidnim i nenukleozidnim inhibitorima reverzne transkriptaze u HAART terapiji (visoko učinkovita

Kemijska analiza i sinteza / Chemical Analysis and Synthesis

antiretrovirusna terapija) za liječenje HIV infekcija. Međutim, u kliničkoj primjeni uočena su njihova štetna popratna djelovanja, loša podnošljivost za pacijente, međudjelovanje s drugim lijekovima, te pri njihovoj dugotrajnoj primjeni uočeno da ti lijekovi izazivaju lipodistrofiju, kardiovaskularne poremećaje i bolesti poremećaja metabolizma (poput dijabetesa) (Mintas, Raić-Malić, 2009). To je potaknulo istraživanja za novim, nepeptidnim inhibitorima HIV proteaze koji umjesto peptidomimetičkog hidroksietilenskog središnjeg mosta sadrži cikličku ureju, 4-hidroksikumarin ili 4-hidroksi-5,6-dihidro-2-piron (De Clercq, 2002).

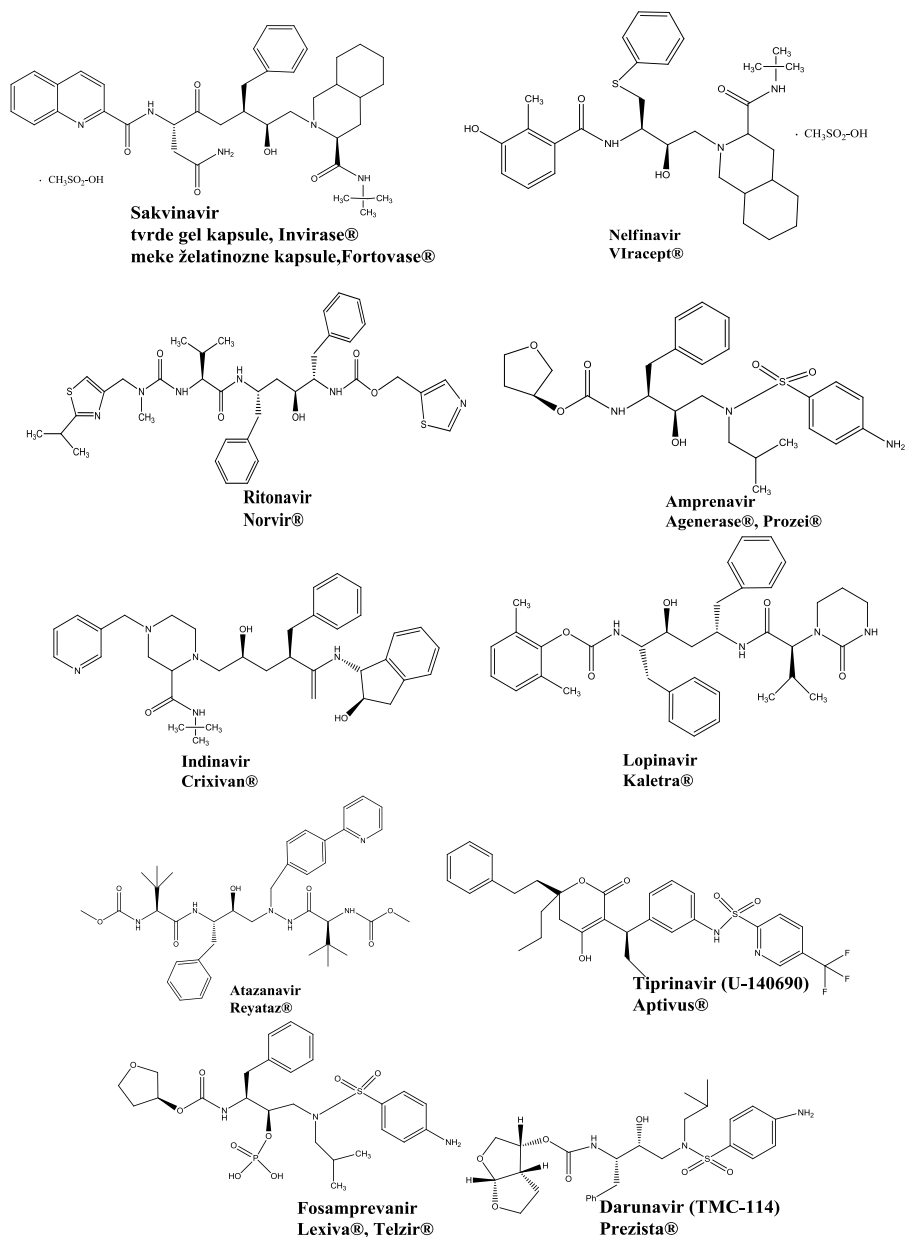
Tipranavir je prvi nepeptidni inhibitor HIV-1 proteaze djelotvoran protiv sojeva HIV-1 koji su rezistentni na ostale inhibitore proteaze (Flexner i sur., 2005).

Kombinirana kemoterapija: Visoko učinkovita antiretrovirusna terapija (HAART)

Od 1996. godine, važnost primjene kombinatorne kemoterapije za liječenje HIV infekcija je postala široko prihvaćena. Kombinatorna kemoterapija bila je česta praksa za liječenje tuberkuloze (kombinacija tri tuberkulostatika). Također je uvedena i za liječenje AIDS-a, te je dobila svoj vlastiti akronim, HAART tj. visoko učinkovita antiretrovirusna terapija (De Clercq, 2009).

Uvođenjem HAART terapije značajno je smanjena smrtnost pacijenata sa HIV-om i zasigurno je monoterapija postala prošlost. Danas se u terapiji HIV-a koristi kombinacija dva ili tri (ili više) lijekova koji inhibiraju različite faze u životnom ciklusu HIV-a (Mehellou, De Clercq, 2009). Prva upotreba HAART terapije kod pacijenata uključivala je uzimanje puno tableta dnevno, stoga su farmaceutske tvrtke naporno radile kako bi te lijekove spojile u samo jednu tabletu. Prvi takav lijek bio je Kombivir, koji se sastojao od dva nukleozidna inhibitora reverzne transkriptaze (NRTI), zidovudina i lamivudina.

Tri godine kasnije uveden je Trizivir, koji je se sastoji od tri nukleozidna inhibitora reverzne transkriptaze (NRTI), te se uzima kao 1 tableta dva puta dnevno (Mehellou, De Clercq, 2009). U 2004. godini odobrene su još dvije kombinacije lijekova za liječenje HIV infekcija, Epzicom i Truvada. Epzicom se sastoji od kombinacije dva nukleozidna inhibitora reverzne transkriptaze, te u Europi dolazi pod nazivom Kivexa. Truvada je prvi kombinatorni lijek koji sadrži nukleotidne inhibitore reverzne transkriptaze. U 2006. godini razvijen je i peti kombinatorni lijek, Atripla, koji se sastoji od kombinatornog lijeka truvade i efavirenza (Mehellou, De Clercq, 2009). 27. kolovoza 2012. godine odobren je od FDA je prvi kombinatorni lijek koji sadrži četiri lijeka (engl. quad pills) pod nazivom Stribild. Stribild se sastoji od četiri aktivne komponente: TDF(tenofovir),(-)FTC (emtricitabin), kobicistat (engl. pharmacoenhancer, strukturno sličan ritonaviru, ali ne pokazuje anti HIV aktivnost) i elvitegravir (inhibitor integraze). Sljedeća kombinacija koja se razmatra je TDF, (-) FTC, kobicistat i atazanavir (inhibitor proteaze) (De Clercq, 2013). Dok je u teoriji broj mogućih kombinacija anti HIV lijekova rapidno raste, broj tableta koje oboljeli moraju uzimati se smanjio sa 20 tableta dnevno u 1996. godini na samo jednu tabletu sa kombinatornim lijekom u 2006. godini (De Clercq, 2009). HAART terapija je poboljšala toleranciju na lijek, smanjila razvoj rezistencije na lijek, te poboljšala kvalitetu života HIV pozitivnih pacijenata (Mehellou, De Clercq, 2009).



Slika 9. Strukture Inhibitora HIV proteaze
 Fig. 9. Structure of HIV protease inhibitors (De Clercq, 2009)

Zaključci

U odsutnosti djelotvornog cjepiva za HIV infekcije, iskorijenjivanje HIV-a je postao glavni globalni problem. Iako se većina stanica inficiranih HIV-om uništi, mali dio stanica vraća se u "latentnu" fazu i preživi, te se DNA HIV-a trajno integrira u genom domaćina. Pošto su ove stanice jedne od najduže živućih stanica u tijelu, infekcije HIV-om mogu perzistirati u latentnom obliku koji je nedostupan imunološkom sustavu i trenutnoj antiretrovirusnoj terapiji (Palmisano i Vella, 2011). Nema sumnje, da je od otkrića virusa humane imunodeficijencije (HIV), napredak u razvoju djelotvornog lijeka u anti HIV terapiji uspješniji od otkrića lijekova za ostale virusne infekcije. Ovaj napredak stvorio je arsenal anti HIV lijekova, koji inhibiraju različite faze u životnom ciklusu HIV-a. To je dovelo i do upotrebe tih lijekova u kombinatornoj terapiji HIV infekcija (HAART terapija) (Mehellou, De Clercq, 2009). Iako su se ovi lijekovi pokazali djelotvornim, problemi poput toksičnosti i razvoja rezistentnosti, ograničavaju njihovu upotrebu, te je potreban razvoj novih anti HIV lijekova (Mehellou, De Clercq, 2009). Razvoj novih anti -HIV lijekova sa novim mehanizmom djelovanja treba biti prioritet za sve koji se bave razvojem lijekova za liječenje HIV infekcija. Brojne nove mete anti HIV lijekova su identificirane. Neke od tih meta su regulatorni i /ili pomoćni proteini kao što su Tat, Rev i Nef. Ovi proteini su esencijalni za funkcioniranje HIV, te njihovom inhibicijom možemo se uspješno boriti protiv HIV-a (Mehellou, De Clercq, 2009). S obzirom da lijek još nije dostupan, potrebno je doživotno liječenje pacijenata i također postoji rizik od odgođenog toksičnog djelovanja lijeka (Palmisano i Vella, 2011).

Literatura

- Barditch-Cruovo, P., Deeks, S. G., Collier, A., Safrin, S., Coakley, D. F., Miller, M., Kearney B. P., Coleman, R. L., Lamy, P. D., Kahn, J. O., McGowan, I., Lietman, P. S. (2001): Phase I/II Trial of the Pharmacokinetics, Safety, and Antiretroviral Activity of Tenofovir Disoproxil Fumarate in Human Immunodeficiency Virus-Infected Adults, *Antimicrob. Agent, Chemother.*, 45 (10), 2733-2739.
- De Clercq, E. (2009): Anti-HIV drugs: 25 compounds approved within 25 years after the discovery of HIV, *Int. J. Antimicrob. Ag.*, 33 (4), 307–320.
- De Clercq E. (2005): Emerging anti HIV drugs, *Expert opin. Emerging drugs*, 10 (2), 241-274.
- De Clercq, E. (2004): Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors (NNRTIs): Past, Present, and Future, *Chem. Biodivers.*, 1 (1), 44-64.
- De Clercq, E. (2002): Strategies in design of antiviral drugs, *Nat.rev.drug.discov.*, 1 (1), 13-25.
- Flexner, C., Bate, G., Kirkpatrick, P. (2005): Tipranavir, *Nat.rev.drug.discov.*, 4 (12), 955-956.
- Grinsztejn, B., Nguyen, B. Y., Katlama, C., Gatell, J. M., Lazzarin, A., Vittecoq, D., Charles J Gonzalez, C. J., Chen, J., Harvey, C. M., Isaacs, R. D. (2007): Safety and efficacy of the HIV-1 integrase inhibitor raltegravir (MK-0518) in treatment-experienced patient with multidrug-resistant virus: a phase II randomised controlled trial, *Lancet*, 369, 1261 -1269.
- Kwong, P. D., Wyatt, R., Robinson, J., Sweet, R. W., Sodroski†k, S. R., Hendrickson, W. A. (1998): Structure of an HIVgp120 envelope glycoprotein in complex with the CD4 receptor and a neutralizing human antibody, *Nature*, 393 (6686), 648-659.

- Matthews, T., Salgo, M., Greenberg M., Chung J., DeMasi, R., Bolognesi, D. (2004): Enfuvirtide: the first therapy to inhibit the entry of HIV-1 into host CD4 lymphocytes, *Nat. Rev. Drug. Discov.*, 3 (3), 215-225.
- Mintas, M., Raić-Malić, S. (2009): Medicinska kemija, Zagreb, Medicinska naklada, 370-398.
- Mohanty, U., Dixit, M. N. (2008): Mechanism-based model of the pharmacokinetics of enfuvirtide an HIV fusion inhibitor, *J. Theor. Biol.*, 251, 541–551.
- Palmisano, L., Vella S. (2011): A brief history of antiretroviral therapy of HIV infection: success and challenges, *Ann Ist Super Sanita*, 47 (1), 44-48.
- Planinić, A. (2014): Mutacije povezane s rezistencijom virusa ljudske imunodeficijencije tipa 1 na antiretrovirusne lijekove, doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu, 4-9.
- Pommier, Y., Johnson, A., Marchan, C. (2005): Integrase inhibitors to treat HIV/AIDS, *Nat. Rev. Drug. Discov.*, 4 (3), 236-248.
- Schrijvers, R., Desimie, B. A., Debyser, Z. (2011): Rilpivirine: a step forward in tailored HIV treatment, *The lancet*, 378 (9787), 201-203.
- Shehu-Xhilaga, M., Oelrichs, R. (2009): Basic HIV virology [http://www.ashm.org.au/images/Publications/Monographs/HIV_Management_Australasia/HIV_Management-Chapter_1.pdf] [27.7. 2014].

Review

Application of antiretroviral therapy in HIV caused infections

Jelena Klenkar*

*Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Food Technology Osijek,
Franje Kuhača 20, 31 000 Osijek, Croatia*

**Corresponding author: jelena.klenkar@gmail.com*

Summary

Since the discovery that AIDS (Acquired immunodeficiency syndrome) is caused by HIV (Human immunodeficiency virus), there have been more drugs developed for HIV infections than for all other viral infections combined. Anti HIV drugs are classified in different categories, depending on which phase of HIV replicative cycle they inhibit. Classes of anti HIV drugs are: nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs; zidovudine (AZT), didanosine (ddI), zalcitabine (ddC), stavudine (d4T), lamivudine (3TC), abacavir (ABC) and emtricitabine), nucleotide reverse transcriptase inhibitors (NtRTIs; tenofovir), non –nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs; nevirapine, daleviridine, efavirenz and etravirine), protease inhibitors (PI; saquinavir, ritonavir, indinavir, nelfinavir, amprenavir, lopinavir, atazanavir, fosamprenavir, tipranavir i darunavir), inhibitors of the entry of HIV in host cell (fusion inhibitors; FI: enfuvirtid, coreceptor inhibitors; CRI: maraviroc) and integrase inhibitors (INI; raltegravir). To achieve the best possible results, patients today are prescribed with HAART therapy (Highly active antiretroviral therapy) which uses a combination of two, three or more different anti HIV drugs. HAART therapy aims to reduce the risk of resistance development, improve tolerability by targeting more than one phase of replicative cycle of HIV at once.

Keywords: HIV virus, anti-HIV drugs, HAART therapy